

НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО- БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИМИОТЕРАПИИ С ВКЛЮЧЕНИЕМ ФТОРПИРИМИДИНОВ

Люд А.Н., Степанова Е.В.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»*

ГУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина»

Одними из наиболее изучаемых маркеров, используемых для предсказания эффективности лечения фторпириимидами, являются тимидилат синтетаза (ТС) и тимидин фосфорилаза (ТФ).

ТС, катализирующая превращение уридина в тимидин, относится к ключевым ферментам, контролирующим репликацию ДНК [1]. ТС – мишень действия фторпирииминов, в том числе 5-фторурацила (5-ФУ). Высокий уровень активности фермента не позволяет 5-ФУ полностью заблокировать активность ТС. Большинство исследований показывает, что больные раком желудка с высоким уровнем ТС плохо поддаются лечению инфузиями 5-ФУ, опухоли же с низким ее содержанием – хорошо [2]. Частота встречаемости таких высокочувствительных опухолей с низким уровнем ТС составляет от 15 до 20%. Считается, что эффективность 5-фторурацила у пациентов с низким уровнем ТС в два-три раза выше по сравнению с ТС-положительными больными. Замечено, что уровень экспрессии ТС в опухолевых клетках снижается после проведения

химиотерапии [3]. Гиперэкспрессия ТС в опухолевых клетках коррелирует с неблагоприятными клинико-морфологическими характеристиками опухоли (в частности, с поражением регионарных лимфоузлов) и низкой 5-летней выживаемостью больных [4].

ТФ – один из ферментов, участвующих в метаболизме пиримидинов, катализирует обратное фосфорилирование тимидина в тимин и 2-дезоксирибозо-1-фосфат. ТФ участвует в ингибировании синтеза ДНК под действием 5-ФУ [10]. ТФ также является непрямым ангиогенным фактором [5]. Высокая экспрессия ТФ в опухолевых клетках коррелирует с высокой степенью инвазии опухоли, частым метастазированием [6], короткой медианой выживаемости и низкой чувствительностью к химиотерапии [7].

Целью исследования явилось изучение значения экспрессии ТС и ТФ в ткани опухоли для эффективности адьювантного лечения больных раком желудка режимом 5-фторурацил/лейковорин.

Материалы и методы. В исследование было включено 75 больных раком желудка I-III стадии, получавших лечение в период с 1995 г по 1998 г. Средний возраст больных составил 59,8±8,6 лет (от 45 до 70 лет). 30,8% пациентов имели I стадию заболевания, 19,2% – II и 46,2% – III стадию. Согласно классификации Laugen, 61,5% больных имели интестинальный тип опухоли, 30,8% – диффузный и 7,7% – смешанный. У 69% больных новообразование локализовалось в нижней трети желудка, у 3,9% – в средней трети, у 7,7% – в верхней трети, у 19,2% имело место тотальное или субтотальное поражение желудка

На первом этапе всем пациентам была проведена радикальная операция (гастрэктомия, субтотальная резекция желудка). В послеоперационном периоде все больные получили курс адьювантной химиотерапии с включением 5-фторурацила/лейковорина.

Иммуногистохимическое исследование выполняли по стандартной методике. В качестве первичных антител использовали моноклональные антитела к ТС (клон TS104, разведение 1:100, DAKO Corp) и ТФ (клон P-GF.44C, разведение 1:500, Oncogene Research Products). Для выявления антигенных детерминант проводили обработку срезов в Target Retrieval Solution [DAKO Corp] в течение 30 мин. при 95°C. Инкубацию с первичными антителами проводили в течение 12 часов при 4°C. Для визуализации реакции антиген-антитело использовали стрептавидин-биотиновую тест-систему ENVISION+kit [DAKO Corp]. Хромогеном служил ДАБ+ [DAKO Corp]. Срезы докрашивали гематоксилином и заключали в бальзам.

Оценку результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа Leica (увеличение x10, x20, x40).

Результаты и обсуждение. Экспрессия ТС обнаружена у 65,4% больных раком желудка. Экспрессия ТС в первичной опухоли не коррелировала с клинико-морфологическими параметрами опухоли. Экспрессия ТФ в опухолевых клетках обнаружена у 69,2% больных раком желудка. Случаи с высокой экспрессией ТФ в опухолевых клетках чаще имели митотическую активность выше 10 (91,7%), чем с низкой экспрессией ТФ (50%), $p=0,036$. Других корреляций с клинико-морфологическими параметрами не выявлено.

53,8% случаев рака желудка были оценены как положительные по экспрессии ТФ в стромальных клетках. Данный показатель также прямо коррелировал с митотической активностью опухоли ($p=0,008$). При экспрессии

ТФ в стромальных клетках 83,3% опухолей имели митотическую активность выше 10, а среди опухолей без экспрессии ТФ в строме таких случаев было 28,6%. Другие клинико-морфологические характеристики опухоли не коррелировали с экспрессией ТФ в стромальных клетках.

Анализ корреляций между экспрессией маркеров показал, что высокая экспрессия ТС в первичной опухоли прямо коррелирует с экспрессией ТФ в опухолевых ($p=0,008$) и стромальных ($p=0,036$) клетках. Также имеется прямая корреляция между экспрессией ТФ в опухолевых и стромальных клетках ($p=0,009$).

Среди изученных больных метастазы после проведенного адьювантного лечения появились у 30,8%; у всех метастазы выявлены в течение первого года после хирургического удаления первичной опухоли (время появления метастазов составило 2-12 мес., медиана – 7,04 мес.).

Традиционные факторы прогноза больных раком желудка, такие как Т, N и М стадия, стадия по WHO, Lauren, гистологический тип опухоли, степень злокачественности, количество митозов, не коррелировали с безрецидивной выживаемостью.

Был проведен анализ корреляции экспрессии ТС и ТФ в опухолевых клетках рака желудка и временем появления метастазов после адьювантного лечения.

Экспрессия ТС в первичной опухоли не коррелировала с прогнозом заболевания ($p=0,848$) 5-летняя безрецидивная выживаемость была одинакова для ТС-положительных и ТС-отрицательных больных (70,6% и 66,7%, соответственно).

Выживаемость без прогрессирования больных, имеющих ТФ-положительные опухоли, статистически значимо выше, чем ТФ-отрицательных ($p=0,01$). Пятилетняя выживаемость составила 37,5% у ТФ-отрицательных больных (медиана времени до прогрессирования (МВП) – 8 мес.) и 83,3% у ТФ-положительных больных (МВП не достигнута).

Экспрессия ТФ в стромальных клетках также была благоприятным прогностическим фактором ($p=0,006$). Пятилетняя безрецидивная выживаемость составила 41,7% среди больных, у которых экспрессия ТФ в стромальных опухолях была низкая (МВП – 12 мес.), и 92,9% - среди больных с высокой экспрессией ТФ (МВП не достигнута).

Анализ ко-экспрессии ТФ в опухолевых и стромальных клетках позволил выделить три основных группы больных различного риска возникновения метастазов ($p=0,005$):

1. Группа больных низкого риска (ТФоп+/ТФстр+) – пятилетняя безрецидивная выживаемость – 92,3%.

2. Группа больных среднего риска (ТФоп-/ТФстр+ или ТФоп+/ТФстр-) – 66,7%.

3. Группа больных высокого риска (ТФоп-/ТФстр-) – 28,5%.

Заключение. В нашем исследовании не обнаружено связи между экспрессией ТС в первичной опухоли и прогнозом заболевания и резистентностью к адьювантной терапии фторпиримидинами.

В то же время, экспрессия ТФ в опухолевых и стромальных клетках первичной опухоли может рассматриваться как фактор благоприятного прогноза

больных раком желудка, получавших в качестве адъювантного лечения химиотерапию с включением 5-фторурацила/лейковорина.

Литература:

1. Heidelberger, C. Fluorinated pyrimidines and their nucleosides. In: Sartorelli AC, Johns DG, editors. Handbook of experimental pharmacology. – New York: Springer-Verlag, 1975. – 38 – P. 193–231.
2. Thymidylate synthase and thymidine phosphorylase gene expression as predictive parameters for the efficacy of 5-fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for gastric cancer // D. Hua [et al.] // World J Gastroenterol. – 2007. – N 13. – P. 5030–4.
3. Thymidylate synthase activity after preoperative administration of 5-FU in patients with gastric or colorectal cancer / S. Arima [et al.] // Gan To Kagaku Ryoho. – 2000. – N 5. – P. 703–10.
4. Tsujitani, S. Expression of thymidylate synthase in relation to survival and chemosensitivity in gastric cancer patients // Tsujitani S., Konishi I., Suzuki K. // J. Exp Clin Cancer Res. – 2000. – N 9. – P. 189–95.
5. Angiogenic activity of enzyme / M. Haraguchi [et al.] // Nature. – 1994. – N 368. – P. 198.
6. Thymidine phosphorylase expression in gastric carcinoma as a marker for metastasis // S. Konno [et al.] // Anticancer Res. – 2003. – N 23. – P. 5011–4.
7. Gene expressions for **thymidylate synthase** (TS), orotate phosphoribosyltransferase (OPRT), and thymidine phosphorylase (TP), not dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD), influence outcome of patients (pts) treated with S-1 for gastric cancer (GC) / W. Ichikawa [et al.] // Journal of Clinical Oncology. — ASCO Annual Meeting Proceedings. – 2004. – Vol 22, No 14S. – Abstr 4050.